Aus dem Pharmakologischen Institut der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München.
Vorstand: Professor Dr. A. Jodlbauer.

Der Einfluss der Wasserstoff- bezw. Hydroxylionen auf kernhaltige rote Blutkörperchen.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von

Karl Döttl,
appr. Tierarzt.

Vereinsdruckerei H. Och, Staffelstein.

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München.

Referent: Prof. Dr. Albert Jodlbauer.

Schon wiederholt ist die Wirkung der H- bezw. OH-Ionen auf rote Blutkörperchen untersucht worden. Es handelte sich bei solchen Versuchen um den Einfluss dieser Ionen auf die Haemolyse, sowie um die Umbildung des Haemoglobins zu Methaemoglobin bezw. Haematin auf der sauren Seite und um die Erforschung, wie die Haemolyse zustande kommt. So fanden Madsen und Walbum[1]), dass starke anorganische Säuren schon bei geringerer Menge haemolysierten als schwache organische. Einen Schritt weiter führten die Untersuchungen von Michaelis und Takahashi[2]), die ihre Versuche mit genau dosierten H·-Conzentrationen durchführten. Sie fanden die Grenze der Säurehaemolyse für verschiedene Tierarten praktisch bei demselben p_H Wert von 5.0. Walbum[3]) bestimmte die Lysegrenze auf der alkalischen Seite zwischen 8.0 und 8.5 p . Michaelis[4]) führte die Haemolyse
H
durch H-Ionen auf die Ausfällung der Stromasubstanz, bezw. auf die dabei eintretende Lösung der Stromahaemoglobinverbindung zurück. Versuche über Wärmehaemolyse von Jodlbauer u. Haffner[5]) ergaben Anhaltspunkte für eine Beziehung der Haemolyse zu kolloiden Zustandsänderungen der Blutkörperchenbestandteile. Haffner folgerte aus Versuchen mit H- und OH-Ionen bei Zimmertemperatur, daß die Haemolyse sowohl durch Säure wie durch Lauge auf einer Ionisierung des Haemoglobins und einer dadurch vermehrten Wasseranziehung beruhe ohne Mitwirkung der Stromasubstanz. Mond[6]) weist dagegen darauf hin, daß Veränderungen der Membran der Körperchen vorhanden sein müssen, da sonst das Haemoglobin nicht austreten könnte; er zeigte, daß die Stromasubstanz von p : 9.0 ab in Lösung gehe und erachtet daher die
H
Veränderung der Stromasubstanz für das Entscheidende.

Die Einwirkungen der H-Ionen auf kernhaltige Blutzellen sind bisher noch nicht geprüft worden. Es fiel mir die Aufgabe zu, experimentell festzustellen, ob sich kernhaltige Blutzellen in Bezug auf den Eintritt der Haemolyse und auf das Uebergehen des Haemoglobins in Methaemoglobin bezw. Haematin im Säurebereich ebenso verhalten und besonders — was ebenfalls noch nicht untersucht wurde — welches Verhalten der Kern gegenüber H- und OH-Ionen zeigt.

1) Madsen u. Walbum, zit. nach Arrhenus s. Anm. 12.
2) Michaelis u. Takahashi, Biochem. Zeitschr. 29, 439. 1910.
3) Walbum, Biochem. Zeitschr. Bd. 63 S. 221.
4) Michaelis u. Takahashi, l. c. 1914.
5) Jodlbauer u. Haffner. Pflügers Arch. f. Ges. Physiol. 179 u. 134. 1920.
6) Mond, Pflügers Archiv f. d. Ges. Phys. 208. 574.

Die Versuche wurden an den kernhaltigen roten Blutkörperchen des Huhnes, Fisches und Frosches angestellt.

Lösungen mit genauem Gehalt an H- bezw. OH-Ionen können nur mittels Puffergemische erhalten werden. Ich wählte als Gemische in erster Linie die Phosphatpuffer, die aber nicht nach den Angaben von Michaelis[1]) hergestellt wurden, sondern entsprechend früheren Versuchen von Jodlbauer und Haffner[2]).

Werden Phosphatpuffergemische nach den Vorschriften von Michaelis angefertigt — durch Zusammenmischen von primären und sekundären Phosphat in verschiedenen Verhältnissen, so lassen sich nur Werte im Bereiche von p_H : 4.529 — 8.302 erzielen.

Da die für unsere Versuche notwendigen Säure- und Alkaliszenzgrade den Reaktionsbereich der nach Michaelis[3]) hergestellten Phosphatpuffergemische weit überschritten, andererseits aber wegen der Vergleichbarkeit der Versuche die Beibehaltung derselben Pufferart notwendig war, wurden die H-Ionen Konzentrationen durch abgestufte Zusätze von HCl und NaOH zu einer stets gleichen Menge einer Mischung von gleichen Teilen primären und sekundären Natriumphosphates hergestellt und so nach der Anordnung von Jodlbauer und Haffner[2]) ein p_H : Bereich von 2.15 — 11.93 erzielt. Zu 2,5 ccm der $\frac{n}{3}$-Phosphatmischung — gleiche Teile von $\frac{n}{3}$ primären und $\frac{n}{3}$ sekundärem Phosphat kamen 1, 2, 3 usw. ccm $\frac{n}{10}$ HCL bezw. $\frac{n}{10}$ — NaOH, wodurch Pufferlösungen erhalten wurden, deren H·-Konzentration sich von der dicht beim Neutralpunkt liegenden Phosphatmischung ohne Zusatz (p_H : 6.7) nach der sauren wie nach der alkalischen Seite immer weiter entfernen. Wie die Berechnung ergibt, wird zwar bereits durch 4,16 ccm $\frac{n}{10}$ HCL bezw. NaOH die ganze Phosphatmischung in primäres bezw. sekundäres Phosphat übergeführt. Doch bleibt auch weiterhin noch eine genügende Pufferwirkung der Mischungen bestehen, wie sich aus der Bestimmung der H-Ionen Konzentrationen nach der Indikatorenmethode ergab und durch spätere Versuche von Haffner[2]) mittels der Gaskettenmethode Bestätigung fand.

Die zu meinen Versuchen verwendeten Gemenge hatten folgende p_H Werte:

---

1) Michaelis l. c.
2) Jodlbauer u. Haffner l. c.
3) Michaelis l. c.

2,5 ccm $\frac{mol}{3}$ Phosphatmischung u. 6 ccm $\frac{n}{10}$ NaOH u. 0 ccm $\frac{mol}{10}$ NaCl: p_H : 10.78 (mit Gaskettenmessung bestimmt)

2,5 ccm $\frac{mol}{3}$ Phosphatmischung u. 5,5 ccm $\frac{n}{10}$ NaOH u. 0,5 ccm $\frac{mol}{10}$ NaCl: p_H : 10.39 (mit Indikatoren bestimmt)

2,5 ccm $\frac{mol}{3}$ Phosphatmischung u. 5,0 ccm $\frac{n}{10}$ NaOH u. 1,0 ccm $\frac{mol}{10}$ NaCl: p_H : 10.26 (mit Gaskettenmessung bestimmt)

2,5 ccm $\frac{mol}{3}$ Phosphatmischung u. 0,0 ccm $\frac{n}{10}$ NaOH u. 6,0 ccm $\frac{mol}{10}$ NaCl: p_H : 6.77 (mit Gaskettenmessung bestimmt)

2,5 ccm $\frac{mol}{3}$ Phosphatmischung u. 3,0 ccm $\frac{n}{10}$ HCl. u. 3,0 ccm $\frac{mol}{10}$ NaCl: p_H : 5.96 (mit Gaskettenmessung bestimmt)

2,5 ccm $\frac{mol}{3}$ Phosphatmischung u. 3,5 ccm $\frac{n}{10}$ HCl. u. 2,5 ccm $\frac{mol}{10}$ NaCl: p_H : 5.56 (mit Indikatoren bestimmt)

2,5 ccm $\frac{mol}{3}$ Phosphatmischung u. 4,0 ccm $\frac{n}{10}$ HCl. u. 2,0 ccm $\frac{mol}{10}$ NaCl: p_H : 5.17 (mit Gaskettenmessung bestimmt)

2,5 ccm $\frac{mol}{3}$ Phosphatmischung u. 4,75 ccm $\frac{n}{10}$ HCl u. 1,25 ccm $\frac{mol}{10}$ NaCl: p_H : 3.24 (mit Indikatoren bestimmt)

2,5 ccm $\frac{mol}{3}$ Phosphatmischung u. 5,0 ccm $\frac{n}{10}$ HCl u. 1,0 ccm $\frac{mol}{10}$ NaCl : p_H : 2.98 (mit Gaskettenmessung bestimmt).

Durch Zusatz von 0,8 ccm destilliertem Wasser zu obigen Gemengen wurden die Lösungen auf eine Salz-Konzentration = $\frac{mol}{6,5}$ (entsprechend 0,9 % NaCl) gebracht.

I. Die Hämolyse der kernhaltigen Hühner-, Fisch- und Froschblutkörperchen in Puffergemischen, verglichen mit der Hämolyse kernloser Blutkörperchen.

Versuchsanordnung:

Die Rinder- und Hühnerblutkörperchen wurden mit 0,9 % NaCl, die Fisch- und Froschblutkörperchen mit 0,7 % NaCl serum-

frei gewaschen. Die schliessliche Blutkörperchenaufschwemmung entsprach einem 1,5 % Blut.

Zu 5 ccm dieser Aufschwemmungen kamen dann 2 ccm der verschiedenen Puffergemenge.

Der Versuch wurde bei Zimmertemperatur (19° C) durchgeführt.

Es dürfte genügen, aus den sehr grossen Versuchsreihen die Ergebnisse zusammenfassend anzugeben.

1.) Die Lyse auf der alkalischen Seite tritt bei den kernhaltigen Körperchen rascher ein, als bei den kernlosen und zwar in der Reihenfolge: Fisch, Frosch, Huhn, Rind. Zum Beispiel:

Im alkalischen Bereich p_H : 10.78 ist nach 60 Minuten die Lyse bei den Fischblutkörperchen nahezu vollständig, bei den Frosch- und Hühnerblutkörperchen nur in Spuren zu sehen, während die kernlosen Rinderblutkörperchen noch keine Spur von Lyse zeigen.

Wenn die Lyse beim Froschblut auch verhältnismässig rasch einsetzt, so nimmt sie im weiteren Verlauf nur sehr langsam zu, was vielleicht mit dem starken Zusammenballen der Blutkörperchen zusammenhängt.

2) Die Hämatinbildung auf der saueren Seite erfolgt innerhalb der Blutkörperchen und zwar am raschesten beim Fisch, dann folgen Frosch, Huhn und endlich Rind.

So zeigt sich im saueren Bereich p_H : 2.98 zum Beispiel beim Huhn bereits nach 10 Minuten leichte Lyse und Hämatinbildung, ebenso bei Fisch und Frosch, nicht aber beim Rind. Bei letzterem tritt beides erst nach 30 Minuten ein.

Während bei Rind und Huhn die Hämatinbildung nur bei den p_H-Werten unter p_H : 5.17 erfolgt, sieht man bei Fisch und Frosch Hämatinbildung auch bei p_H : 5.17.

Der Hämatinbildung innerhalb der Körperchen folgt bald die Lyse.

Im stärkst saueren Bereiche sieht man nach vollständiger Lyse das Auftreten einer feinsten Trübung, jedoch nur beim Rinderblut.

II. Vergleich von Glykokoll-Citrat- und Phosphat-Puffer gleicher p_H Werte in Bezug auf die Lyse der Rinderblutkörperchen.

Da es denkbar ist, daß ausser den H- bezw. OH-Ionen auch die Art des Puffers die Lyse beeinflusst, wurden als Puffer Glykokoll, Citrat und Phosphat mit annähernd gleichem p_H Werten

verwendet und zwar nach den Angaben von S.P.L. Sörensen[1], der folgende Standardlösungen vorschlägt:

1) Eine Lösung, die in einem Liter 7,505 Glykokoll und 5,85 g reines NaCl enthält (Glykokoll-Puffer)

2) Eine 0,1 molare Lösung sekundärem Natriumcitrats, diese wird durch Lösen von 21,008 g kristallisierter Zitronensäure in 200 ccm n-Natronlauge und Verdünnen mit Wasser auf einen Liter hergestellt (Citrat-Puffer).

Durch Zugabe bestimmter Mengen von $\frac{n}{10}$ HCl bezw. $\frac{n}{10}$ NaCl können Lösungen mit genau bestimmten p_H-Werten hergestellt werden.

Die Phosphatpuffer wurden nach der in Abschnitt I angegebenen Methode hergestellt.

Herstellung der Puffer

im Bereich von p_H 11.93—12.09

Glykokoll: 4,5 ccm Glykokoll u. 5,5 ccm 1/10 n NaOH
(genauer p_H Wert: 12.095)

Citrat: 4,5 ccm Citrat u. 5,5 ccm 1/10 n NaOH
(genauer p_H Wert: 12.073)

Phosphat: Nach der Anordnung in Abschnitt I
(genauer p_H Wert: 11.93)

im Bereich von p_H 10.14—10.92

Glykokoll: 6,0 ccm Glykokoll u. 4 ccm 1/10 n NaOH
(genauer p_H Wert: 10.14)

Citrat: 4,8 ccm Citrat u. 5,6 ccm 1/10 n NaOH
(genauer p_H Wert: 10.92)

Phosphat: Nach der Anordnung in Abschnitt I
(genauer p_H Wert: 10.93)

1) S.P.L. Sörensen, Enzymstudien II. Biochem. Zeitschr. 21. 131. 1900.

im Bereich von p_H 2.92—2.98

Glykokoll: 8,0 ccm Glykokoll u. 2 ccm 1/10 n HCl
(genauer p_H Wert: 2.922)

Citrat: 4,0 ccm Citrat u. 6 ccm 1/10 n HCl
(genauer p_H Wert: 2.97)

Phosphat: Nach der Anordnung in Abschnitt I
(genauer p_H Wert: 2.98)

Versuchsanordnung:

Zu je 5 ccm der Rinderblutkörperchenaufschwemmung kamen 2 ccm der Glykokoll- bezw. Citrat- bezw. Phosphatpuffer. Der Versuch gelangte bei Zimmertemperatur (19°C) zur Durchführung.

Die Ergebnisse sind, kurz zusammengefaßt, folgende:

Zwischen den verwendeten Puffern — Phosphat, Glykokoll und Citrat — mit annähernd gleichen p_H - Werten ergeben sich sehr starke Unterschiede in Bezug auf Eintritt der Lyse roter Blutkörperchen.

Auf der saueren Seite (p_H: 2.98) wirkt am raschesten lysierend und hämatinbildend der Citratpuffer, dann folgt mit starkem Abstand der Glykokollpuffer und zuletzt der Phosphatpuffer. Als Beispiel: Bei p_H: 2.98 nach 15 Minuten vollständige Lyse mit Uebergang in Hämatin beim Citratpuffer, schwache Lyse und Hämatinbildung beim Glykokollpuffer, weder Lyse noch Hämatinbildung beim Phosphatpuffer.

Auf der alkalischen Seite wirkt am raschesten lysierend der Phosphatpuffer, dann folgen in weitem Abstand der Glykokollpuffer und der Citratpuffer.

Das verschiedene Verhalten der einzelnen Puffer mit annähernd gleichen p_H-Werten dürfte mit osmotischen Verhältnissen zusammenhängen.

III. Einfluss der Reaktion auf die Schädigung roter Blutkörperchen durch Hypotonie.

Die Frage, ob die Schäden der Hypotonie durch verschiedene H·-Conzentration zu beeinflussen sind, wurde von Haffner[1]) mit Phosphatpufferlösungen an kernlosen Blutzellen gelöst mit

dem Ergebnis, daß bei den alkalischen Werten um p_H : 9.5 herum ein Resistenzoptimum gegen die Schäden der Hypotonie vorliegt. Vom Neutralpunkt nach der saueren Seite nimmt die Resistenz auffallend rasch ab.

Diese Ergebnisse konnten wir durch Versuche mit Rinderblutkörperchen bestätigen.

Wir dehnten die Versuche auf die kernhaltigen roten Blutkörperchen des Huhnes und des Frosches aus.

Die Versuchsanordnung war folgende:

Zu je einem ccm Phosphatpuffer mit den p_H : Werten: 10.78; 10.39; 10.26; 6.77; 5.96; 5.56; 5.17; 3.24; 2.98, und 1 ccm 10% Körperchenaufschwemmung wurde destilliertes Wasser in wechselnder Menge zugesetzt, so daß sich die verschiedensten Salzkonzentrationen im Bereiche von 0,59% — 0,1 % ergaben.

Aus den Versuchen ging hervor, daß die kernhaltigen roten Blutkörperchen von Huhn und Frosch sich viel resistenter gegen Schädigungen durch Hypotonie verhalten, wie die kernlosen Rinderblutkörperchen. Ferner zeigte sich — was bereits Haffner fand — daß die grösste Resistenz gegen Hypotonie nicht im Neutralpunkt, sondern weit im alkalischen Bereich (p_H : 10.26) liegt. Während in diesem alkalischen Bereiche die roten Blutkörperchen des Rindes bei einstündigem Aufenthalt in einer Salzkonzentration von 0,5% NaCl zu lysieren beginnen, erfolgt in der gleichen Zeit die Lyse des Hühnerblutes erst bei 0,45% NaCl, die des Frosches unter 0,12% NaCl.

Was für den Bereich von p_H : 10.26 gesagt ist, gilt in gleicher Weise für die stärker sauere, sowie für die neutrale und für die stärker alkalische Reaktion.

Es sei hierfür aus den Versuchen nur ein Beispiel mit dem p_H : 5.96 herausgegriffen:

Innerhalb einer Stunde erfolgt vollständige Hämolyse des Rinderblutes bei 0,65% NaCl, des Hühnerblutes erst bei 0,35% NaCl, bei Froschblut bei 0,12% (hier sogar unvollständig).

IV. Formveränderung der kernhaltigen Blutkörperchen, besonders ihres Kernes durch H- nnd OH-Ionen mit besonderer Berücksichtigung der Färbbarkeit mit Methylenazur-Eosin.

Von den in Abschnitt I Versuch I beschriebenen Blutkörperchenaufschwemmungen in verschiedenen H-Concentrationen, ent-

1) Jodlbauer u. Haffner l. c.

nahmen wir nach 22 Stunden des Versuchsbeginnes Proben und fertigten kapillare Blutausstriche an. Alle Proben wurden in gleicher Weise vorschriftsmässig mit Azur-Eosin-Lösung unter genauester Einhaltung von Conzentration Temperatur und Zeit gefärbt.

Um Zufälligkeiten auszuschalten, wurden die Versuche nach Abschnitt I wiederholt angestellt, ebenso die Färbungen.

Die Blutkörperchen zeigten für die einzelnen p_H-Werte ganz typische Bilder, die in allen Versuchen wiederkehrten.

A) Mikroskopische Befunde bei verschiedener H·-Conzentration.

Alkalischer Bereich:

p_H : 10.78

Die Zellmembran mitsamt Exo- und Endoplasma ist nicht sichtbar. Nur der Zellkern ist sichtbar. Er ist gequollen. Sein Chromatingerüst ist mittelweit- bis engmaschig.

Die Farbtönung des Kernes und seines Chromatinnetzes ist gleichmässig blauviolett.

p_H : 10.39 und 10.26

Nach der schwächer alkalischen Seite zu ist die Zellmembran schwach sichtbar; auch Exo- und Endoplasma treten matt in Erscheinung. Das Zellvolumen erscheint verkleinert, das des Kernes vergrössert. Das Chromatinnetz, das weitmaschiger ist, als bei p_H : 10.78 lässt am Kernrande Contourierung erkennen. Die Farbtönung der Zellmembran, des Exo- und Endoplasmas ist matt orange, doch ist die Zellmembran etwas kräftiger gefärbt, als das Exo- und Endoplasma. Der Zellkern mit seinem Chromatingerüst zeigt sich stärker blauviolett gefärbt als bei p_H : 10.78 und hat besonders am Rande viel Farbe gespeichert.

Saurer Bereich.

p_H : 6.77

In diesem Bereich ist das kernhaltige Körperchen am wenigsten alteriert. Die Zellmembran, Exo- und Endoplasma, der Zellkern und das Zell- und Kernvolumen sind unverändert.

Die Farbtönung der scharf contourierten Membran ist rotorange, das Exoplasma orange mit einem Ton ins rötliche; das Exoplasma zeigt z. Teil ungefärbte Stellen. Der Kern und sein Chromatinnetz sind mittelstark blauviolett.

p_H : 5.96 u. 5.17

Die Zellmembran ist contouriert, Exo- und Endoplasma sind gut sichtbar. Volumen der Zelle vergrössert, das des Kernes eher verkleinert. Das Chromatingerüst ist auffallend weitmaschig.

Die Farbtönung der Zellmembran ist dunkelorange, das Exo- und Endoplasma gelb, das Chromatinnetz schwach blauviolett.

p_H : 3.24

Zellmembran, Exo- und Endoplasma schwach sichtbar. Zellvolumen vergrössert, Kernvolumen verkleinert. Die Weitmaschigkeit des Chromatingerüstes nimmt gegenüber p_H : 5.17 ab.

Die Farbtönung der Zellmembran, des Exo- u. Endoplasmas ist matt-orange. Der Kern mit seinem Chromatingerüst ist mittelstark blauviolett und zwar etwas stärker als bei p_H : 5.17.

p_H : 2.98

Zellmembran gut erhalten, ebenso z. Teil das Exoplasma-, das Endoplasma ist nicht sichtbar. Das Zellvolumen ist sehr stark vergrössert, das des Kernes verkleinert. Das Chromatinnetz ist sehr engmaschig.

Die Farbtönung der Zellmembran und des Exoplasmas ist blaurot, der Kern ist schwarzblauviolett ohne Membrancontourierung.

Zusammenfassung:

Zusammenfassend lässt sich sagen: Im alkalischen Bereich p_H : 10.78—10.26 wird Zellmembran und Protoplasma geschädigt und zwar um so stärker, je höher der p_H : -Wert ist. Das Zellvolumen ist, soweit noch die Zellmembran zu sehen ist, verkleinert, das Kernvolumen dagegen vergrössert. Das Chromatinnetz ist weitmaschiger als im neutralen Bereich.

Im schwach sauren Bereich p_H : 5.96—5.17 ist das Zellvolumen vergrössert. Das Kernvolumen dagegen ist kleiner als normal und besitzt trotzdem ein auffallend weitmaschiges Chromatingerüst.

Im stark saueren Bereich p_H : 2.98 ist die Zellmembran vollständig erhalten, das Endoplasma aber nicht mehr sichtbar. Das Zellvolumen ist ebenfalls vergrössert, dagegen ist der Kern klein. Das Chromatingerüst zeigt stärkste Engmaschigkeit.

B) Veränderung der Art und Stärke der Färbung.

Vergleichen wir in den einzelnen p_H-Bereichen die Färbbarkeit von Protoplasma und Kern mittels Methylenazur-Eosin, so zeigt sich, daß die Stärke der Eosinfärbung des Protoplasmas von der alkalischen Seite gegen die sauere zunimmt. Allerdings kann das im stark saueren Bereich nicht mehr zum Ausdruck kommen, weil eben mit fortschreitender Lyse das färbbare Material, der Zellinhalt, immer mehr abnimmt.

Umgekehrt verhält sich der Kern gegenüber dem basischen Methylenazur. Die grösste Farbenintensität zeigt sich im alkalischen Bereich, nach der saueren Seite erfolgt Abnahme der Färbbarkeit, die allerdings im stark saueren Bereich (p_H : 2.98) wieder stärker wird, was vielleicht durch das engmaschige Chromatingerüst des Kernes nur vorgetäuscht wird.

Die Beobachtung, daß der saure Farbstoff im saueren Medium, der basische Farbstoff im basischen Medium intensiver färbt, lässt sich verallgemeinern, da auch z. B. Wollefäden im saueren Bereich durch die Farbsäuren, im basischen durch die Farbbasen intensiver und haltbarer gefärbt werden.

C) Revercibilität der beschriebenen Veränderungen.

Um zu sehen, ob die Veränderungen der Färbbarkeit und die der Kerngrösse rückbildbar sind, wurden die Körperchen aus dem saueren Bereich (p_H : = 2.98) in den neutralen Bereich (p_H : = 6.77) bezw. den alkalischen (p_H : = 10.78) und umgekehrt die Körperchen aus dem alkalischen Bereich (p_H : = 10.78) in den neutralen Bereich (p_H : = 6.77) bezw. in den saueren (p_H : 2.98) gebracht.

Dabei zeigte sich, daß die Lösungen, die schliesslich verwendet waren, ausschlaggebend für das mikroskopische Bild sind, daß also z. B. bei der Verbringung der im saueren Bereich (p_H : 2.98) befindlichen Blutkörperchen in den alkalischen Bereich (p_H : 10.78) die Körperchen das mikroskopische Bild vom p_H : 10.78 zeigen und zwar je nach der Einwirkungsdauer genau so, wie es aus den bisher geschilderten Versuchen bekannt ist Ebenso gilt das für die Verbringung der Körperchen aus dem alkalischen Bereich in den saueren.

Es geht aus diesen Beobachtungen hervor, daß die jeweilige Färbbarkeit der Zelle von der Reaktion der Aussenlösung ab-

hängig ist und daß das Zellplasma verhältnismässig rasch seine Reaktion entsprechend der Reaktion der Aussenlösung ändern kann.

All die Färbeeigentümlichkeiten sind also durch Reaktions- u. Konzentrationsänderungen jeweils zu beeinflussende Vorgänge, die solange reversibel sind, als die Wasserstoffionen keine stärkeren Veränderungen wie z. B. das Lösen der Zellmembran gesetzt haben.

Die Färbbarkeit des Kernes dagegen lässt sich wenig beeinflussen und es ist daraus zu schliessen, daß der Kern gegen die Reaktionsänderung der Aussenlösung widerstandsfähig ist. Allerdings sieht man am Kerne Unterschiede seines Volumens und der Dichte des Chromatingerüstes.

D) Der zeitliche Ablauf der Veränderungen.

Die bisher geschilderten Versuche beziehen sich auf eine 22 stündige Einwirkungsdauer der Reaktionsgemische. Im Folgenden soll versucht werden, die allmähliche Entwicklung der vorhergehenden Erscheinungen zu schildern. Zu dem Zwecke wurden aus den Reaktionsgemischen p_H : 10.78 (alkalische Seite), p_H : 6.77 (Neutralpunkt) und p_H : 2.98 (sauere Seite) bereits nach 3 Minuten, dann nach 25 Minuten und schliesslich nach einer Stunde Anstrichpräparate gefertigt.

Beim p_H : 10.78 beginnt bereits nach 3 Minuten Austritt von Hämoglobin und damit Abnahme der Eosinfärbbarkeit, nach 25 Minuten fehlt entsprechend des vollzogenen Austritts von Haemoglobin die Eosinfärbung, dagegen ist die noch erhaltene Membran färbbar.

Nach einer Stunde ist auch von der Membran nichts mehr zu sehen. In diesem Zustande ist der Kern stärker färbbar als zu Beginn der Einwirkung. Der Kern ist etwas vergrössert. Dies gilt für Huhn- wie für Froschblutzellen, nur daß zur Ausbildung der Veränderung beim Froschblutkörperchen etwas längere Zeiten notwendig sind.

Im Neutralpunkt zeigt der Phosphatpuffer keine Aenderung der Zelle sowie ihrer Färbbarkeit.

Im Bereiche von p_H : 2.98 ist nach 25 Minuten Einwirkung das Körperchen noch intakt. Nach einstündiger Einwirkung fehlt die Plasmafärbung, wohl aus dem Grunde, da das Plasma ausgetreten ist.

Der Kern ist derartig stark gequollen, daß er der noch erhaltenen Zellmembran fast vollständig anliegt. Die Färbbarkeit des Kernes ist vermindert, zumal das Chromatingerüst sehr weit-

maschig ist. Die schwächere Färbbarkeit der Kernsubstanz wird auch mit der auf der saueren Seite geringeren Affinität des basischen Farbstoffes zusammenhängen.

Nach 2 Stunden sind die Erscheinungen der Kernquellung bereits wieder stark zurückgebildet.

Nach 22 Stunden ist, wie bereits beschrieben, der Kern wieder klein, das Chromatingerüst engmaschig und stark gefärbt.

Die Arbeit ist in enger Fühlungnahme mit Herrn Professor Dr. A. Jodlbauer entstanden, dem ich für Anregung und Unterstützung grossen Dank schulde.

Lebenslauf.

Ich, Karl Döttl, wurde am 31. Dezember 1903 in Herzogenaurach b. Erlangen als Sohn des Distriktstierarztes Robert Döttl geboren. Nach vierjährigem Besuch der Volksschule Bamberg kam ich 1914 an die Realschule zu Lichtenfels und absolvierte im März 1923 die Oberrealschule zu Coburg.

Im gleichen Jahre bezog ich die Tierärztliche Fakultät der Universität München.

Das Sommer-Semester 1926 verbrachte ich an der Tierärztlichen Hochschule in Wien, kehrte dann nach München zurück und erlangte im November 1927 die Approbation als Tierarzt.

Vom Juli 1927 bis Februar 1928 war ich am Pharmakologischen Institut der Tierärztlichen Fakultät der Universität München mit Anfertigung vorliegender Arbeit beschäftigt.